

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
18 avril 2002 (18.04.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 02/30371 A1

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : A61K 7/06,  
7/48, 7/13, 7/42

Français [FR/FR]; 14 rue de la Nonette, F-60300 SENLIS  
(FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR01/03109

(74) Mandataires : CATHERINE, Alain etc.; Cabinet  
HARLE et PHELIP, 7 rue de Madrid, F-75008 PARIS  
(FR).

(22) Date de dépôt international : 9 octobre 2001 (09.10.2001)

(81) États désignés (national) : CA, JP, US.

(25) Langue de dépôt : français

(84) États désignés (régional) : brevet européen (AT, BE, CH,  
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,  
SE, TR).

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
00/12897 9 octobre 2000 (09.10.2000) FR

Publiée :  
— avec rapport de recherche internationale

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :  
L'OREAL [FR/FR]; 14 rue Royale, F-75008 PARIS (FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : PRUCHE,

(54) Title: DYEING COMPOSITION PROMOTING NATURAL PIGMENTATION, METHOD FOR OBTAINING SAME AND  
USE FOR COLOURING THE SKIN AND/OR KERATINOUS FIBRES

(54) Titre : COMPOSITION TINCTORIALE FAVORISANT LA PIGMENTATION NATURELLE, PROCEDE D'OBTENTION  
ET UTILISATION POUR LA COLORATION DE LA PEAU ET/OU DES FIBRES KERATINIQUES

$$\frac{[Mn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \neq 0 \quad (I)$$

$$\frac{[Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Zn(II)] \neq 0 \quad (II)$$

$$\frac{[Mn(II) + Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \text{ et } [Zn(II)] \neq 0 \quad (III)$$

(57) Abstract: The invention concerns  
a colouring composition promoting  
natural pigmentation, the method  
for obtaining it and use thereof for  
colouring the skin and/or keratinous  
fibres. The composition comprises, in a  
physiologically acceptable medium, at  
least an enzyme having pro-pigmentation  
activity and an efficient amount of  
a catalytic system comprising a first  
constituent selected among the salts  
and oxides of Mn(II) and/or Zn(II) and  
their mixtures and a second constituent  
selected among alkaline hydrogen

carbonates, alkaline-earth hydrogen carbonates and their mixtures, the proportions of the first and second constituents corresponding  
to formulae:  $[Mn(II)]/[HCO_3] \leq 1$  with  $[Mn(II)] > 0$ ;  $[Zn(II)]/[HCO_3] \leq 1$  with  $[Zn(II)] > 0$ ;  $[Mn(II) + Zn(II)]/[HCO_3] \leq 1$  with  $[Mn(II)]$   
+  $[Zn(II)] > 0$ . The invention is useful for colouring the skin and/or keratinous fibres.

(57) Abrégé : Composition tinctoriale favorisant la pigmentation naturelle, procédé d'obtention et utilisation pour la coloration de la  
peau et/ou des fibres kératiniques. La composition comprend, dans un milieu physiologiquement acceptable, au moins une enzyme  
ayant une activité propigmentation et une quantité efficace d'un système catalytique comprenant un premier constituant choisi parmi  
les sels et oxydes de Mn(II) et/ou de Zn(II) et leurs mélanges et un second constituant choisi parmi les hydrogénocarbonates alcalins,  
les hydrogénocarbonates alcalino-terreux et leurs mélanges, les proportions du premier et du second constituant étant telles que les  
formules (I), (II), (III). Application à la coloration de la peau et/ou des fibres kératiniques.

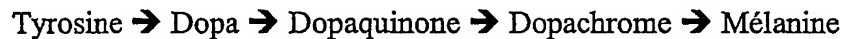
WO 02/30371 A1

**Composition tinctoriale favorisant la pigmentation naturelle, procédé d'obtention et utilisation pour la coloration de la peau et/ou des fibres kératiniques**

La présente invention concerne d'une manière générale une composition tinctoriale, en particulier pour la coloration de la peau et/ou des matières kératiniques qui favorise la pigmentation naturelle de la peau et/ou des fibres kératiniques.

La couleur des cheveux et de la peau humaine est fonction de différents facteurs et notamment des saisons de l'année, de la race, du sexe et de l'âge. Elle est principalement déterminée par la concentration de mélanine produite par les mélanocytes. Les mélanocytes sont les cellules spécialisées qui par l'intermédiaire d'organelles particuliers, les mélanosomes, synthétisent la mélanine.

La synthèse de la mélanine ou mélanogénèse est particulièrement complexe et fait intervenir schématiquement les principales étapes suivantes :



La tyrosinase (EC 1.14.18.1) est l'enzyme responsable de la catalyse de deux réactions successives : l'hydroxylation d'un monophénol (exemple la tyrosine) en un o-diphénol (exemple la L-DOPA) et l'oxydation de cet o-diphénol en o-quinone et une troisième réaction qui est l'oxydation du 5,6 Dihydroxyindole. Deux autres enzymes jouent un rôle : la TRP2 (Dopachrome tautomérase) et la TRP1 (DHIC oxydase). Chez les plantes, il existe des enzymes différentes pour ces deux réactions. L'oxydation des polyphénols se réalise par des polyphenols oxydases de deux types : les laccases (EC 1.10.3.2) qui oxydent les p-diphénols et les catéchol oxydases (EC 1.10.3.1) qui oxydent les o-diphénols. Le site actif de ces enzymes contient du cuivre. Les réactions après la formation de dopaquinones peut se réaliser d'une façon non-enzymatique et en particulier les réactions avec la L-cystéine responsables de la formation de phéomélanines (qui donnent une coloration jaune/marron à rouge).

Chez les plantes, il existe de nombreux substrats de la catécholase comme la catéchine, l'acide chlorogénique, le catéchol. Les réactions

oxygène dépendantes sont responsables du « brunissement enzymatique » des fruits. Cette enzyme est importante aussi dans les réactions de fermentation de certaines plantes ou fruits. Par exemple, dans la fabrication des thés colorés, la catécholase est responsable de la formation des pigments.

Chez l'homme, la teneur en mélanine varie d'une population à l'autre et la quantité de tyrosinase et en ARNm de celle-ci ne varient pas significativement entre une peau noire et une peau blanche. C'est donc au niveau de la régulation de l'activité tyrosinase qu'une intervention est souhaitable. C'est la raison pour laquelle les produits ayant un effet dépigmentant ont pour cible cette enzyme (exemple hydroquinone et l'acide Kojique) ou en intervenant au niveau des quinones formées (par exemple des antioxydants comme l'acide ascorbique). Pour la modulation de la pigmentation de nombreuses solutions ont été proposées mais font intervenir des hormones (alpha MSH) ou des molécules agissant sur des seconds messagers (type AMPc). Le mécanisme de la formation de mélanine est très complexe et les mécanismes précis ne sont pas encore élucidés.

La recherche de composés pouvant augmenter la pigmentation de la peau et du cheveu est une préoccupation de la dermatologie et de la cosmétique.

A cet égard, il a été proposé de nombreuses solutions dans le domaine de la coloration artificielle, par apport de colorants exogènes sensés donner à la peau et/ou les cheveux une coloration le plus proche de ce qu'elle est naturellement ou dans le domaine de la coloration naturelle par stimulation des voies naturelles de pigmentation.

D'excellents résultats sont certes obtenus par les solutions proposées dans l'art antérieur, mais il n'en demeure pas moins que la stimulation de la pigmentation de la peau et/ou des cheveux par la voie naturelle reste la voie idéale de pigmentation.

A cet égard, il a été proposé dans les documents WO-A-9517161, WO-9511003, WO-A-9501773, WO-A-9404674, WO-A-9404122, EP-A-585018, WO-A-9310804, WO-A-9220322 ou WO-A-9107945 des solutions aussi variées que des compositions contenant un inhibiteur de

phosphodiesterases, l'utilisation de prostaglandine, de fragments d'ADN, de dérivés de la tyrosine ou encore d'extraits de plantes.

Souvent, les composés utilisés présentent des effets secondaires non négligeables ou sont des mélanges complexes qui ne présentent pas de  
5 spécificité.

Il a d'autre part été suggéré par Rushton et collaborateurs (Rushton, D.H., et coll., Clin. Exp. Dermatol., 1989, 14(1), 40-46) que le Minoxidil ou 2,4-diamino-6-piperidino pyrimidine 3-oxyde, pouvait avoir un effet stimulateur de la pigmentation du velus chez des hommes chauves traités  
10 par ce composé.

Le « Minoxidil » est connu pour ses effets anti-hypertenseur et pour sa capacité à favoriser la pousse des cheveux. Ces propriétés sont décrites dans US-4.596.812

Le Minoxidil, s'il reste le composé de référence dans le domaine de  
15 la pousse des cheveux, présente des effets secondaires non négligeables qui rendent son utilisation délicate.

La demande WO-A-9220321 décrit une crème favorisant le brunissement de peaux claires lors d'une exposition au soleil ou à des rayons UVB, dont la composition comprend un écran solaire, un milieu  
20 physiologiquement acceptable et une pseudocatalase. La pseudocatalase est un complexe de coordination d'un métal de transition dont le métal est Cu(I), Fe(II) ou Mn(II) et le ligand du bicarbonate. Par pseudocatalase, on entend un composé physiologiquement acceptable qui catalyse la dismutation de  $H_2O_2$  in vivo de manière analogue à une catalase.

Pour le traitement de la dépigmentation de la peau liée à des blocages de la transformation de la tyrosine en mélanine, comme par exemple le vitiligo, la demande WO-9220354 décrit une composition contenant, dans un milieu physiologiquement acceptable, une  
25 pseudocatalase.

L'article de K. Schallreuter (« Pseudocatalase is a bis-manganese III-EDTA-(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> complex activated by UVB or natural sun »; J Investing Dermatol Symp Proc 1999 Sep; 451°; 91-6) mentionne l'utilisation d'un mélange d'hydrogénocarbonate de sodium et de manganèse ayant une activité pseudocatalase pour le traitement du vitiligo.  
30

Cependant, il n'y a pas, dans l'ensemble de ces documents, d'indication concernant la coloration.

Dans le domaine de la coloration capillaire, le brevet européen EP-A-6.210.029 décrit une composition comprenant du chlorite de sodium, un  
5 sel hydrosoluble de Fe, Mn ou Cu, ou un chélate de ce sel et un précurseur de colorant d'oxydation.

La coloration des cheveux nécessite l'emploi de combinaisons  $H_2O_2$ - ammonium ou amine.

Il serait donc souhaitable de disposer de compositions capables de  
10 compenser une déficience en activité enzymatique ou de se substituer aux cellules productrices de pigments (mélanocytes).

Il serait également souhaitable de disposer de telles compositions qui permettraient également une coloration de la peau et/ou des matières  
kératiniques par apport de colorants exogènes.

15 De telles composition seraient particulièrement intéressantes pour le formulation de compositions de bronzage car elles permettraient à la fois d'obtenir un bronzage artificiel et une activation du bronzage naturel.

Dans le cas de compositions pour la teinture des cheveux, ces compositions pourraient permettre des délais prolongés entre deux  
20 colorations, l'activation de la pigmentation naturelle des cheveux réduisant la visibilité de la perte de coloration à la racine des cheveux lors de leur pousse.

La demanderesse a trouvé de façon surprenante qu'un système catalytique comprenant l'association d'un sel ou oxyde de Mn(II) et/ou  
25 Zn(II) et d'un hydrogénocarbonate alcalin ou alcalino-terreux, permet de formuler des compositions ayant l'activité recherchée.

La présente invention a donc pour objet une composition pour la coloration de la peau et/ou des matières kératiniques par augmentation de  
l'activité enzymatique.

30 La présente invention a aussi pour objet une composition telle que définie ci-dessus et dont l'effet colorant est également obtenu par apport de colorants exogènes.

La présente invention a encore pour objet un procédé d'obtention d'une composition tinctoriale telle que définie ci-dessus.

La présente invention concerne en outre un procédé de coloration de la peau et/ou des fibres kératiniques utilisant une composition telle que définie ci-dessus.

Enfin, la présente invention concerne des conditionnements et formes galéniques de la composition tinctoriale ou de constituants de la composition tinctoriale selon l'invention.

La composition pour la coloration de la peau et/ou des fibres kératiniques selon l'invention comprend, dans un milieu physiologiquement acceptable, une quantité efficace d'au moins une enzyme ayant une activité de pigmentation et une quantité efficace d'un système catalytique comprenant un premier constituant choisi parmi les sels et oxydes de Mn(II) et/ou Zn(II) et leurs mélanges et un second constituant choisi parmi les hydrogénocarbonates alcalins, les hydrogénocarbonates alcalino-terreux et leurs mélanges, les proportions du premier constituant et du second constituant étant telles que :

$$\frac{[Mn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \neq 0$$

$$\frac{[Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Zn(II)] \neq 0$$

$$\frac{[Mn(II) + Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \text{ et } [Zn(II)] \neq 0$$

où [Mn(II)], [Zn(II)] et [HCO<sub>3</sub>] représentent respectivement les concentrations molaires en Mn(II), Zn(II) et HCO<sub>3</sub> dans la composition.

Dans une autre réalisation de l'invention, la composition comprend en outre une quantité efficace d'au moins un précurseur de colorant d'oxydation choisi parmi les composés comportant au moins un cycle aromatique ayant au moins deux groupes hydroxyles (OH) portés par deux atomes de carbone consécutifs du cycle aromatique.

Le système catalytique selon l'invention agit alors également comme catalyseur dans l'oxydation du précurseur pour obtenir la forme colorée.

Dans encore une autre réalisation, la composition comprend également une quantité efficace d'au moins un acide aminé comportant au moins un groupe thiol.

Généralement, le rapport  $\frac{[Mn(II)]}{[HCO_3]}$  varie de  $10^{-5}$  à  $10^{-1}$ , de  
5 préférence de  $10^{-3}$  à  $10^{-2}$  et est typiquement de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-3}$ .

Dans le cas de Zn(II), le rapport  $\frac{[Zn(II)]}{[HCO_3]}$  est en général d'un ordre de 10 à 100 fois supérieur au rapport dans le cas de Mn(II).

Typiquement, ce rapport est de  $10^{-4}$  ou plus, de préférence  $10^{-3}$  ou plus, et de préférence de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-1}$ .

10 Dans le cas d'un mélange de Mn(II) et Zn(II), le rapport varie généralement de  $10^{-5}$  à  $10^{-1}$ , de préférence  $10^{-3}$  à  $10^{-2}$ , ce rapport étant choisi plus élevé lorsque la proportion de Zn(II) dans le mélange s'accroît.

Généralement, la concentration molaire en Mn(II), Zn(II), ou Mn(II) + Zn(II) dans la composition finale varie de  $10^{-3}$  à 10 mM/l, de  
15 préférence de  $10^{-2}$  à 1 mM/l.

Lorsqu'on utilise seulement un ou plusieurs sels ou oxydes de Mn(II), la concentration molaire en Mn(II) dans la composition finale est typiquement de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$  mM/l, de préférence  $10^{-2}$  à  $10^{-1}$  mM/l.

De préférence, lorsqu'on utilise uniquement un ou plusieurs sels ou  
20 oxydes de Zn(II), la concentration en Zn(II) dans la composition finale est de  $5 \cdot 10^{-2}$  à 10 mM/l, mieux de  $5 \cdot 10^{-1}$  à 1 mM/l.

Parmi les sels de Mn(II) et Zn(II) convenant pour la présente invention, on peut citer les chlorure, fluorure, iodure, sulfate, phosphate, nitrate et perchlorate, les sels d'acides carboxyliques et leurs mélanges.

25 A titre d'exemple, on peut citer le chlorure de manganèse, le carbonate de manganèse (par exemple rhodochrosite), le difluorure de Mn(II), l'acétate de Mn(II) tétrahydraté, le lactate de Mn(II) trihydraté, le phosphate de Mn(II), le perchlorate de Mn(II) tétrahydraté et le sulfate de Mn(II) monohydraté.

30 Les sels particulièrement préférés sont  $MnCl_2$  et  $ZnCl_2$ .

Les sels d'acides carboxyliques incluent également des sels d'acides carboxyliques hydroxylés tels que le gluconate.

Parmi les hydrogénocarbonates alcalins et alcalino-terreux, on peut citer les hydrogénocarbonates de Na, K, Mg, Ca et leurs mélanges, préférentiellement l'hydrogénocarbonate de Na.

Comme indiqué précédemment, le système catalytique chimique selon l'invention constitue une pseudo-oxydase en ce qu'il oxyde les polyphénols, en présence d'oxygène, comme le ferait un catalyseur enzymatique naturel ayant une activité polyphénoloxydase.

Par contre, le système catalytique selon l'invention n'a pas d'activité pseudocatalase en ce sens qu'il ne provoque pas la dismutation du peroxyde d'hydrogène à 0,3% en poids (soit 1 volume d'oxygène).

En outre, l'activité pseudo-oxydase est liée à l'emploi du système catalytique selon l'invention. Ainsi, chacun des constituants du système catalytique pris séparément n'a pas d'activité pseudo-oxydase. De même que le remplacement du sel de Mn(II) ou Zn(II) par un autre sel, Fe, Cu ou même Mn(II) ne conduit pas à un système catalytique ayant une activité pseudo-oxydase.

Comme cela sera mis en évidence ci-après, le système catalytique accroît l'activité propigmentation de l'enzyme ou des enzymes présentes dans la composition.

L'enzyme ou les enzymes présentes dans les compositions selon l'invention peuvent être toutes enzymes présentant une activité propigmentation.

L'activité propigmentation peut se définir comme l'activité enzymatique qui catalyse l'oxydation d'un substrat pour conduire à la formation de pigments.

Les enzymes peuvent notamment être choisis parmi les pyranose oxydases, les glucose oxydases, les glycérol oxydases, les lactate oxydases, les pyruvate oxydases, les uricases, les choline oxydases, les sarcosine oxydases, les bilirubines oxydases, les laccases, les tyrosinases, les peroxydases, les catalases, les superoxydesdimutases et leurs mélanges, ou parmi des extraits végétaux ou animaux contenant des enzymes précitées, en présence éventuelle d'un donneur (ou substrat) nécessaire au fonctionnement desdites enzymes tel que par exemple la L-tyrosine ou la L-DOPA.

Les enzymes utilisées selon l'invention peuvent être d'origine animale, microbiologique (bactérienne, fongique ou virale) ou synthétique (obtenue par synthèse chimique ou biotechnologique).

La ou les enzymes peuvent être utilisées sous forme cristalline pure  
5 ou sous une forme diluée dans un diluant inerte pour ladite enzyme.

A titre d'exemple d'uricases, on peut notamment citer l'uricase extraite de foie de sanglier, l'uricase d'*Arthrobacter globiformis*, ainsi que l'uricase d'*Aspergillus flavus*.

A titre d'exemple de sources de choline oxydase, on peut  
10 notamment citer le foie de rat, les bactéries telles que *Arthrobacter globiformis*, *Achromobacter cholinophagum* ou *Alcaligenes*, et les champignons tels que *Cylindrocarpon didymum*.

A titre d'exemple de sources de sarcosine oxydase, on peut  
15 notamment citer les bactéries telles que *Arthrobacter* et en particulier *Arthrobacter ureafaciens* et *Arthrobacter globiformis*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* ou *Alcaligenes* tels que par exemple *Alcaligenes denitrificans*, et les champignons tels que *Cylindrocarpon didymum*.

A titre d'exemple de sources de bilirubine oxydase, on peut  
20 notamment citer la muqueuse intestinale et le foie de rat, les bactéries telles que *Myrothecium verucania*, *Myrothecium cinctum*, et *Myrothecium roridum*.

Parmi les laccases d'origine végétale utilisables selon l'invention, on peut citer les laccases produites par des végétaux effectuant la synthèse chlorophyllienne telles que celles indiquées dans la demande de brevet FR-A-2.694.018.  
25

On peut notamment citer les laccases extraites d'Anacardiacees, de Podocarpacees, de *Rosmarinus off.*, de *Solanum tuberosum*, d'*Iris sp.*, de *Coffea sp.*, de *Daucus carota*, de *Vinca minor*, de *Persea americana*, de  
30 *Catharethus roseus*, de *Musa sp.*, de *Malus pumila*, de *Gingko biloba*, et de *Monotropa hypopithys* (sucepin).

Parmi les laccases d'origine microbienne (notamment fongique), ou obtenues par biotechnologie utilisables selon l'invention, on peut citer les laccases de *Polyporus versicolor*, de *Rhizoctonia praticola* et de *rhus vernicifera* telles que décrites par exemple dans les demande de brevet FR-  
35

A-2.112.549 et EP-A-504.005 ; les laccases décrites dans les demandes de brevet WO95/07988, WO95/33836, WO95/33837, WO96/00290, WO97/19998 et WO97/19999, dont le contenu fait partie intégrante de la présente description comme par exemple les laccases de *Scytalidium*, de  
5 *Polyporus pinsitus*, de *Myceliophthora thermophila*, de *Rhizoctonia solani*, de *Pyricularia orizae*, et leurs variantes.

On choira plus préférentiellement les laccases d'origine microbienne ou celles obtenues par biotechnologie.

Dans une forme de réalisation particulièrement préférée de  
10 l'invention, l'enzyme utilisée correspond à la tyrosinase (nomenclature EC 1.14.18.1). Par tyrosinase, il faut entendre dans la présente invention toute enzyme présentant une activité tyrosinase, cette enzyme pouvant présenter d'autres activités enzymatiques. L'activité tyrosinase peut se définir comme l'activité enzymatique qui catalyse l'oxydation de la tyrosine pour  
15 conduire à la formation du précurseur de mélanine : la Dopaquinone.

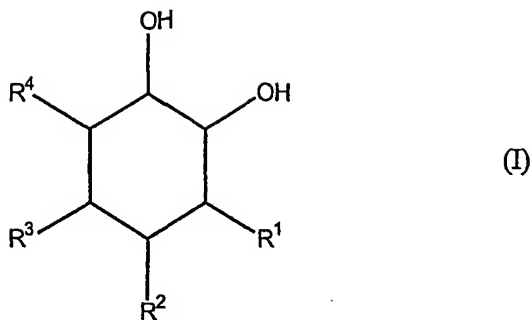
A titre d'exemple de sources de tyrosinase, on peut notamment citer la pomme de terre, les champignons, les micro-organismes tels que *Neurospora crassa*, etc.

La quantité d'enzyme présente dans la composition finale peut  
20 varier largement mais est généralement de  $5 \cdot 10^{-3}$  à 5 mg, de préférence  $5 \cdot 10^{-2}$  à 0,5 mg par millilitre de composition finale.

Les précurseurs de colorant pouvant être incorporés dans les compositions de l'invention sont des composés ou mélanges de composés comprenant au moins un cycle aromatique, de préférence un cycle  
25 benzénique, comportant au moins deux groupes hydroxyles (OH) portés par deux atomes de carbone consécutifs du cycle aromatique.

Le cycle aromatique peut être un cycle aromatique condensé contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes, tel que le naphthalène, le tétrahydronaphtalène, l'indène, l'anthracène, le  
30 phénanthrène, l'indole, l'isoindole, l'indoline, l'isoindoline, le benzofuranne, le dihydrobenzofuranne, le chromane, l'isochromane, le chromène, l'isochromène, la quinoléine, la tétrahydroquinoléine et l'isoquinoléine.

Les précurseurs de colorant selon l'invention peuvent être  
35 représentés par la formule :



dans laquelle les substituents  $R^1$  à  $R^4$ , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un radical halogène, hydroxyle, carboxyle, carboxylate d'alkyle, amino éventuellement substitué, alkyle  
 5 linéaire ou ramifié éventuellement substitué, alcényle linéaire ou ramifié éventuellement substitué, cycloalkyle éventuellement substitué, alcoxy, alcoxyalkyle, alcoxyaryle, le groupe aryle pouvant être éventuellement substitué, aryle, aryle substitué, un radical hétérocyclique éventuellement substitué, un radical contenant un ou plusieurs atomes de silicium, où deux  
 10 des substituents  $R^1$  à  $R^4$  forment conjointement un cycle saturé ou insaturé contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes et éventuellement condensé avec un ou plusieurs cycles saturés ou insaturés contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes.

Les cycles saturés ou insaturés, éventuellement condensés, peuvent  
 15 être aussi éventuellement substitués.

Les radicaux alkyles sont généralement les radicaux alkyles en  $C_1$ - $C_{10}$ , de préférence les radicaux alkyles en  $C_1$ - $C_6$ , tels que méthyle, éthyle, propyle, butyle, pentyle et hexyle.

Les radicaux alcoxy sont en général les radicaux alcoxy en  $C_1$ - $C_{20}$ ,  
 20 tels que méthoxy, éthoxy, propoxy et butoxy.

Les radicaux alcoxy alkyles sont de préférence les radicaux alcoxy ( $C_1$ - $C_{20}$ ) alkyle ( $C_1$ - $C_{20}$ ), tels que méthoxyméthyle, éthoxyméthyle, méthoxyéthyle, éthoxyéthyle, etc.

Les radicaux cycloalkyles sont en général les radicaux cycloalkyles  
 25 en  $C_4$ - $C_8$ , de préférence les radicaux cyclopentyle et cyclohexyle. Les radicaux cycloalkyles peuvent être des radicaux cycloalkyles substitués, en particulier par des groupes alkyles, alcoxy, acide carboxylique, hydroxyle, amine et cétone.

Les radicaux alcényles sont de préférence des radicaux en C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, tels que éthylène, propylène, butylène, pentylène, méthyl-2-propylène et décylène.

Les radicaux contenant un ou plusieurs atomes de silicium sont de  
5 préférence des radicaux polydiméthylsiloxane, polydiphenylsiloxane, polydiméthylphénylsiloxane, stéaoxydiméthicone.

Les radicaux hétérocycliques sont en général des radicaux comprenant un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, N et S, de préférence O ou N, éventuellement substitués par un ou plusieurs groupes  
10 alkyles, alcoxy, acide carboxylique, hydroxyle, amine ou cétone.

Parmi les radicaux hétérocycliques préférés, on peut citer les groupes furyle, pyrannyle, pyrrolyle, imidazolyle, pyrazolyle, pyridyle, thiényle.

De préférence encore, les groupes hétérocycliques sont des groupes condensés tels que des groupes benzofurannyle, chroményle, xanthényle,  
15 indolyle, isoindolyle, quinolyle, isoquinolyle, chromannyle, isochromannyle, indolinyle, isoindolinyle, coumarinyle, isocoumarinyle, ces groupes pouvant être substitués, en particulier par un ou plusieurs groupes OH.

Les précurseurs de colorant préférés sont :

- 20
- les flavanols comme la catéchine et le gallate d'épichatéchine,
  - les flavonols comme la quercétine,
  - les anthocyanidines comme la péonidine,
  - les anthocyanines, par exemple l'oenine,
  - les hydroxybenzoates, par exemple l'acide gallique,
  - 25 - les flavones comme la lutéoline,
  - les iridoïdes comme l'oleuropéine,

ces produits pouvant être osylés (par exemple glucosylés) et /ou sous forme d'oligomères (procyanidines) ;

- 30
- les hydroxystilbènes, par exemple le tétrahydroxy-3,3',4,5'-stilbène, éventuellement osylés (par exemple glucosylés) ;
  - la 3,4-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés ;
  - la 2,3-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés ;
  - la 4,5-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés ;

ces dérivés pouvant être de la forme L (L-DOPA) ou D (D-DOPA),

- 35
- le 4,5-dihydroxyindole et ses dérivés ;

- le 5,6-dihydroxyindole et ses dérivés ;
- le 6,7-dihydroxyindole et ses dérivés ;
- le 2,3-dihydroxyindole et ses dérivés ;
- les dihydroxycinnamates tels que l'acide caféique et l'acide chlorogénique ;
- les hydroxycoumarines ;
- les hydroxyisocoumarines ;
- les hydroxycoumarones ;
- les hydroxyisocoumarones ;
- les hydroxychalcones ;
- les hydroxychromones ;
- les anthocyanes ;
- les quinones ;
- les hydroxyxanthonnes ; et
- les mélanges de ceux-ci.

Les polymères formés en particulier avec la catéchine, l'acide gallique et leurs dérivés (tannins) ont des propriétés antimicrobiennes par emprisonnement des microorganismes lors de la polymérisation. Ces tannins ont également des propriétés astringentes intéressantes pour la peau.

En faisant varier la nature des différents précurseurs de colorant et leurs proportions dans la composition, on peut faire varier la couleur de la composition de coloration finale. On obtient ainsi une palette de couleurs.

Par exemple, avec un ratio 1/10 d'acide chlorogénique et de catéchine, on obtient une coloration marron claire et avec un ratio 1/1 une coloration acajou.

Les précurseurs de colorants peuvent être des extraits de plantes, fruits, agrumes, légumes et des mélanges de ces extraits, qui contiennent de nombreux polyphénols tels que définis précédemment.

Parmi les extraits de plantes, on peut citer les extraits de rose et de thé.

Parmi les extraits de fruits, on peut citer les extraits de pomme, de raisin (en particulier de pépins de raisin) et de banane.

Parmi les extraits de légumes, on peut citer l'extrait de pomme de terre.

Suivant les parties de fruits utilisés, par exemple pulpe ou pépins de raisin, la coloration obtenue est différente.

On peut également utiliser des mélanges d'extraits de plantes et/ou de fruits tels que des mélanges d'extraits de pomme et de thé et des mélanges d'extraits de raisin et de pomme.

La quantité de précurseur de colorant dans la composition finale doit être suffisante pour obtenir une coloration visible. Cette quantité peut varier dans de larges mesures en fonction de la nature du précurseur et de l'intensité voulue pour la coloration.

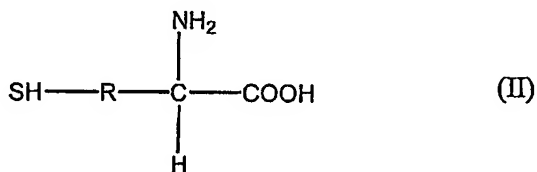
En général, on obtiendra une coloration convenable lorsque la quantité de précurseur de colorant est telle que la teneur en précurseur de colorant dans la composition de coloration finale est d'au moins 10 micromoles par millilitre de composition finale.

Bien évidemment, les doses des constituants des compositions de l'invention sont non toxiques et compatibles avec le cosmétique.

Les compositions selon l'invention peuvent également contenir une quantité efficace d'au moins un acide aminé comportant au moins un groupe thiol (SH) et de préférence un seul groupe thiol, ces acides aminés pouvant être sous la forme de chlorhydrates.

Les acides aminés préférés selon l'invention sont les acides aminés qui contiennent une fonction amine en position  $\alpha$  par rapport à une fonction acide carboxylique.

Les acides aminés préférés peuvent être représentés par la formule :



25

dans laquelle R est un radical hydrocarboné divalent, linéaire ou ramifié, par exemple en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, de préférence en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, tel qu'un radical méthylène, éthylène, butylène, éthylidène, propylidène, un radical cyclique saturé divalent, éventuellement substitué, par exemple en C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>, un groupe aromatique divalent, éventuellement substitué, tel qu'un radical phénylène, tolylène, xylylène.

30

Parmi les acides aminés préférés pour les compositions de l'invention, on peut citer la cystéine et ses dérivés, en particulier la L-cystéine et le chlorhydrate de L-cystéine, et le glutathion et ses dérivés.

Les proportions relatives d'acide aminé et de précurseur de colorant d'oxydation dans les compositions de l'invention peuvent varier dans de  
5 larges mesures en fonction de la coloration voulue. Généralement, le rapport molaire acide aminé/précurseur de colorant variera de 0,001 à 50, de préférence de 0,01 à 5 et mieux de 0,05 à 2,5.

En général, la teneur en acide aminé à groupe thiol dans la  
10 composition finale lorsqu'il est présent, est d'au moins 0,01 micromole par millilitre, de préférence au moins 0,1 micromole/ml.

En faisant varier la nature et les proportions des précurseurs de colorant et des acides aminés éventuels de la composition, on peut obtenir toute une palette de teintes et en particulier des teintes proches de celles du  
15 bronzage naturel.

Ainsi, l'association de la cystéine et de dihydroxyindole permet d'obtenir une nuance marron, plus proche de celle d'un bronzage naturel que l'emploi du seul dihydroxyindole qui conduit à une couleur uniquement noire.

20 Cette association permet d'avoir une coloration naturelle de la peau et du cheveu qui est un mélange d'eulamine et de phéomélanine en proportions variables.

Les compositions de l'invention peuvent également conduire à des films colorés qui présentent une certaine transparence. Cette  
25 caractéristique, alliée au fait que ces compositions permettent d'obtenir une teinte proche du bronzage naturel, et qu'elles activent la pigmentation naturelle de la peau, rend ces compositions particulièrement intéressantes pour l'application au bronzage de la peau, permettant de combiner bronzage artificiel et bronzage naturel tout en obtenant une teinte  
30 homogène.

Le milieu physiologiquement acceptable est un milieu solide ou liquide ne nuisant pas à la propriété de coloration des précurseurs ni à l'effet du système catalytique.

Le milieu physiologiquement acceptable est de préférence un milieu solubilisant du précurseur de colorant de l'enzyme et de l'acide aminé éventuel.

De préférence encore, le milieu physiologiquement acceptable est  
5 un milieu bactériostatique.

Parmi les solvants des précurseurs convenant pour la formulation des compositions selon l'invention, on peut citer l'eau déminéralisée, de préférence ayant une conductivité à température ambiante (25°C) inférieure ou égale à 25 mΩn, par exemple l'eau fabriquée et/ou distribuée  
10 par la société MILLIPORE sous la dénomination milli Q, les alcools, les solvants polaires et leurs mélanges.

Les alcools sont de préférence des alcanols inférieurs (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) tels que l'éthanol et l'isopropanol et les alcanediols tels que l'éthylèneglycol, le propylène glycol et le pentane diol.

15 Parmi les solvants polaires, on peut citer les éthers, les esters (en particulier les acétates), le diméthylsulfoxyde (DMSO), la N-méthylpyrrolidone (NMP), les cétones (en particulier l'acétone) et leurs mélanges.

Le milieu physiologiquement acceptable comprend de préférence de  
20 l'eau déminéralisée ou un mélange eau/alcool, en particulier eau/éthanol.

La quantité d'alcool dans le mélange eau/alcool peut représenter jusqu'à 80% en poids du mélange eau/alcool, de préférence 1 à 50% en poids et mieux 5 à 20% en poids.

Le milieu physiologiquement acceptable peut être un milieu solide  
25 tel qu'un excipient pour la formulation de galets et comprimés, en particulier effervescents.

Les compositions selon l'invention peuvent également comprendre tout adjuvant classique, en proportion usuelle, qui ne nuit pas aux propriétés recherchées.

30 Les compositions de l'invention peuvent par exemple comporter des filtres solaires et de protection contre les UV, tels que les filtres organiques comme le benzophénone, le benzylidène, les dérivés de triazine, les dérivés de l'hydroxyphényl benzotriazole, les dérivés de l'acide cinnamique, les dérivés d'oxybenzone, l'octocrylène, les dérivés de  
35 benzilidène-camphre et les filtres minéraux tels que ZnO, TiO<sub>2</sub>.

Toutefois, dans les compositions de l'invention utilisée dans des formulations pour le bronzage, les pigments formés (mélanines) par l'association du système catalytique et de l'enzyme peuvent assurer une protection solaire en l'absence de filtres additionnels.

5 De préférence, les compositions selon l'invention sont exemptes d'agents de chélation des sels de Mn(II) et/ou Zn(II) utilisés, car ces agents tendent à inhiber l'oxydation des précurseurs de colorant.

Pour révéler la coloration des compositions suivant l'invention, il suffit de mettre la composition selon l'invention en présence d'un milieu oxydant tel qu'un milieu contenant de l'oxygène (par exemple l'oxygène de l'air).

Les compositions selon l'invention sont utiles pour la coloration de la peau et/ou des matières kératiniques tels que les cheveux, les cils, les sourcils et les poils.

15 Pour la coloration de la peau et des fibres kératiniques, différents procédés d'application des compositions selon l'invention peuvent être utilisés.

Selon un premier procédé, on applique sur la peau ou les fibres kératiniques, en présence d'oxygène, par exemple l'oxygène de l'air, une composition comprenant tous les ingrédients de la composition, c'est-à-dire l'enzyme et le système catalytique et éventuellement le ou les précurseurs de colorant et/ou le ou les acides aminés à groupe thiol. Lorsque la composition contient un précurseur de colorant, la révélation de la couleur peut se faire soit avant l'application, soit après application de la composition sur la peau et/ou les fibres kératiniques.

25 Selon un second procédé, on peut en premier lieu appliquer sur la peau ou les matières kératiniques un film d'une composition de base, d'une enzyme et éventuellement d'un ou plusieurs précurseurs de colorant et d'un ou plusieurs acides aminés à groupe thiol dans un milieu physiologiquement acceptable, puis sur le film de composition de base, un film du système catalytique dans un milieu physiologiquement acceptable, qui en présence d'oxygène, révélera la coloration de la composition de base.

On peut bien évidemment inverser l'ordre d'application des films.

L'application des films peut se faire par tout moyen connu, en particulier par pulvérisation.

Une fois la composition selon l'invention appliquée sur la peau et/ou les fibres kératiniques, on peut appliquer une solution à un ou plusieurs orthodiphénols, et dans la mesure où le système catalytique initialement présent n'a pas été totalement consommé, l'apport de cet (ou ces) orthodiphénol(s) supplémentaire(s) augmentera la rémanence de la coloration et/ou selon le (ou les) orthodiphénol(s) utilisé(s) nuancera la teinte et/ou en augmentera l'intensité.

Les compositions de l'invention peuvent également permettre de masquer des défauts de pigmentation tels que le vitiligo, le masque de grossesse, ainsi que des imperfections de la peau comme les taches de vieillissement et la couperose.

La coloration de la composition peut être déterminée par le choix du précurseur de colorant et/ou de l'acide aminé à groupe thiol en fonction du défaut à masquer.

Les compositions de l'invention présentent l'avantage de ne pas nécessiter l'emploi de peroxyde d'hydrogène.

Les compositions selon l'invention peuvent se présenter sous des formes diverses, telles que sous forme de liquides, de crèmes, de gels, ou sous toute autre forme appropriée pour réaliser une coloration, notamment de la peau et des matières kératiniques.

Selon une première réalisation, les compositions selon l'invention peuvent être conditionnées sous forme d'aérosol à un seul compartiment dans lequel se trouvent la composition renfermant la ou les enzymes, éventuellement le ou les précurseurs de colorant et/ou le ou les acides aminés à groupe SH, le système catalytique, et un gaz propulseur inerte classique tel que de l'azote, un hydrocarbure saturé comme l'isopropane ou un hydrocarbure fluoré, par exemple un Fréon®.

Dans une seconde réalisation, la composition selon l'invention peut être conditionnée sous forme d'un kit comportant deux conteneurs distincts, l'un pour la composition de base contenant la ou les enzymes, éventuellement le ou les précurseurs de colorant et/ou le ou les acides aminés, l'autre pour le système catalytique, la composition de base et le

système catalytique étant mélangés ou appliqués successivement au moment de l'emploi.

Dans une troisième réalisation, la composition peut être contenue dans un système à pompe à un seul compartiment, sans reprise d'air, ou  
5 dans un système à pompe à deux compartiments, la composition de base étant dans un compartiment et le système catalytique dans l'autre.

Dans une quatrième réalisation, la composition selon l'invention peut se présenter sous forme de galets, en particulier pour le bain. Chaque galet peut comporter, mélangé à un excipient, la ou les enzymes,  
10 éventuellement le ou les précurseurs de coloration et/ou le ou les acides aminés et le système catalytique, l'excipient empêchant la réaction en présence d'oxygène ou encore la ou les enzymes, éventuellement le ou les précurseurs de colorant et/ou le ou les acides aminés d'une part et le système catalytique d'autre part sont contenus dans des galets distincts.

15 En délitant soit le galet unique soit un galet de chacun des constituants dans de l'eau, par exemple l'eau d'un bain, on réalise la composition colorante selon l'invention.

Les galets, comme cela est classique, peuvent être des galets effervescents.

20 L'excipient utilisé peut être tout excipient classique tel qu'un mélange de talc, de stéarate (en particulier de magnésium), d'acide citrique et/ou tartrique, et d'hydrogénocarbonate alcalin et/ou alcalino terreux.

La quantité d'acide citrique et/ou tartrique présente doit être telle qu'il n'y ait pas une neutralisation de l'hydrogénocarbonate résultant en un  
25 manque d'hydrogénocarbonate libre par rapport au Mn(II) et/ou Zn(II).

D'autre part, comme l'eau, en particulier l'eau du robinet et certaines eaux de source ou minérales, contiennent généralement du manganèse (II), il est parfois suffisant de mettre dans l'eau un seul galet contenant de l'hydrogénocarbonate, la ou les enzymes et éventuellement le  
30 ou les précurseurs de coloration et/ou le ou les acides aminés à groupe thiol, la teneur en Mn(II) du système catalytique étant alors fournie par le Mn(II) présent dans l'eau.

De même, certains extraits végétaux (par exemple des extraits de feuilles de thé) peuvent contenir des quantités importantes de manganèse

(II). En fonction de ces teneurs, un ajustement des concentrations du système catalytique est effectué de manière à avoir un résultat satisfaisant.

Bien évidemment, on peut faire varier l'intensité de la coloration en délitant plusieurs galets dans l'eau.

5 D'autre part, la vitesse de coloration peut être accélérée en ajoutant à la composition un composé ou une formulation de composés engendrant de l'oxygène, par exemple par contact avec de l'eau. Ainsi, on peut incorporer un tel composé ou formulation, par exemple du peroxyde de sodium, dans un galet. Les exemples suivants illustrent la présente  
10 invention. Dans les exemples, sauf indication contraire, tous les pourcentages et parties sont exprimés en poids.

#### EXEMPLE 1

Cet exemple démontre « in vitro » l'augmentation de la vitesse de  
15 formation des composés colorés (mélanine).

Dans une plaque à 96 puits, on a placé des échantillons de 200 µl (4 puits par concentration de produit) dont les formulations sont données dans le Tableau I ci-dessous.

La plaque est incubée 1 heure à 30°C puis on mesure la densité  
20 optique (DO) des échantillons à 620 nm avec une lecture de densité optique pour microplaque (LabSystem iEMS). Les résultats sont donnés dans le Tableau II.

TABLEAU I

	C	A1	A2	A3	B1	B2	B3	1	2	3
Solution de L-tyrosine à 500µM/l dans tampon phosphate de Dulbecco's	100µl	100µl								→
Solution de tyrosinase à 0,1mg/ml dans tampon phosphate de Dulbecco's (Tyrosinase SIGMAT 7755 à 3300 unités par mg)	10µl	10µl								→
NaHCO <sub>3</sub>	-	50mM/l	100mM/l	250mM/l	-	-	-	50mM/l	100mM/l	250mM/l
MnCl <sub>2</sub>	-	-	-	-	500µM/l	1000µM/l	2500µM/l	500µM/l	1000µM/l	2500µM/l
Tampon phosphate de Dulbecco's q.s.p.	200µl	200µl								→

TABLEAU II

Exemple N°	Densité optique	% augmentation par rapport au contrôle C
C	0,1708	-
A1	0,257	51
A2	0,275	61
A3	0,257	51
B1	0,168	NS
B2	0,166	NS
B3	0,173	NS
1	0,271	59
2	0,295	73
3	0,291	71

N.S. : non significatif

5

Les exemples montrent que l'utilisation d'un système catalytique selon l'invention accroît grandement l'activité proglutination de l'enzyme.

## REVENDEICATIONS

1.Composition pour la coloration de la peau et/ou des fibres  
 kératiniques, caractérisée en ce qu'elle comprend, dans un milieu  
 5 physiologiquement acceptable, une quantité efficace d'au moins une  
 enzyme ayant une activité propigmentation et une quantité efficace d'un  
 système catalytique comprenant un premier constituant choisi parmi les  
 sels et oxydes de Mn(II) et/ou de Zn(II) et leurs mélanges et un second  
 constituant choisi parmi les hydrogénocarbonates alcalins, les  
 10 hydrogénocarbonates alcalino-terreux et leurs mélanges, les proportions du  
 premier et du second constituant étant telles que :

$$\frac{[Mn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \neq 0$$

$$15 \quad \frac{[Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Zn(II)] \neq 0$$

$$\frac{[Mn(II) + Zn(II)]}{[HCO_3]} \leq 1 \text{ avec } [Mn(II)] \text{ et } [Zn(II)] \neq 0$$

où [Mn(II)], [Zn(II)] et [HCO<sub>3</sub>] représentent respectivement les  
 20 concentrations molaires en Mn(II), Zn(II) et HCO<sub>3</sub> dans la composition, et  
 facultativement :

- une quantité efficace d'au moins un précurseur de colorant choisi  
 parmi les composés comportant au moins un cycle aromatique ayant  
 au moins deux groupes hydroxyles portés par deux atomes de  
 25 carbone consécutifs du cycle aromatique et/ou,
- une quantité efficace d'au moins un acide aminé comportant au  
 moins un groupe thiol.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le  
 rapport  $\frac{[Mn(II)]}{[HCO_3]}$  varie de 10<sup>-5</sup> à 10<sup>-1</sup>, de préférence de 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-2</sup> et  
 30 mieux est de l'ordre de 5.10<sup>-3</sup>.

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le rapport  $\frac{[Zn(II)]}{[HCO_3]}$  varie de  $10^{-4}$  à  $< 1$ , de préférence de  $10^{-3}$  à  $< 1$ , et mieux est de l'ordre de  $5.10^{-1}$ .

4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le rapport  $\frac{[Mn(II) + Zn(II)]}{[HCO_3]}$  varie de  $10^{-5}$  à  $10^{-1}$ , de préférence  $10^{-3}$  à  $10^{-2}$ .

5. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que les sels de Mn(II) et de Zn(II) sont choisis parmi les chlorure, fluorure, iodure, sulfate, phosphate, nitrate, perchlorate, les sels d'acides carboxyliques et leurs mélanges.

6. Composition selon la revendication 5, caractérisée en ce que le sel de Mn(II) et/ou de Zn(II) est le chlorure.

7. Composition selon la revendication 5, caractérisée en ce que les sels d'acides carboxyliques sont des sels d'acides carboxyliques hydroxylés.

8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que le sel d'acide carboxylique hydroxylé est le gluconate.

9. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'hydrogénocarbonate est choisi parmi l'hydrogénocarbonate de sodium, l'hydrogénocarbonate de potassium, l'hydrogénocarbonate de magnésium, l'hydrogénocarbonate de calcium et leurs mélanges.

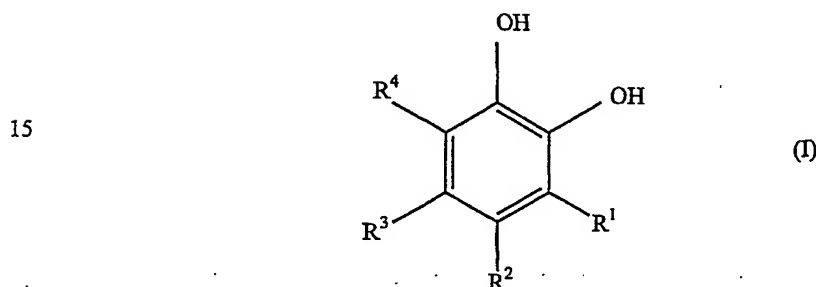
10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'enzyme est choisie parmi les pyranose oxydases, les glucose oxydases, les glycérol oxydases, les lactate oxydases, les pyruvate oxydases, les uricases, les choline oxydases, les sarcosine oxydases, les bilirubines oxydases, les laccases, les tyrosinases, les peroxydases, les catalases, les superoxydesdimutases et leurs mélanges, ou parmi des extraits végétaux ou animaux contenant des enzymes précitées.

11. Composition selon la revendication 10, caractérisée en ce que l'enzyme est choisie parmi les tyrosinases.

12. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend  $5.10^{-3}$  à 5mg, de préférence  $5.10^{-2}$  à 0.5mg d'enzyme par millilitre de composition finale.

13. Composition selon l'une quelconque des revendications  
5 précédentes, caractérisée en ce que le cycle aromatique comportant au moins deux groupes hydroxyle sur deux atomes de carbone consécutifs du précurseur de colorant est un cycle benzénique ou un cycle aromatique condensé.

14. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce que le  
10 précurseur de colorant est un composé ou un mélange de composés de formule :



20 dans laquelle les substituents R<sup>1</sup> à R<sup>4</sup>, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un halogène, un radical hydroxyle, carboxyle, carboxylate d'alkyle, amino éventuellement substitué, alkyle linéaire ou ramifié éventuellement substitué, alcényle linéaire ou ramifié éventuellement substitué, cycloalkyle éventuellement substitué, alcoxy,  
25 alcoxyalkyle, alcoxyaryle, le groupe aryle pouvait être éventuellement substitué, aryle, aryle substitué, un radical hétérocyclique éventuellement substitué, un radical contenant éventuellement un ou plusieurs atomes de silicium, où deux des substituants R<sup>1</sup> à R<sup>4</sup> peuvent former conjointement un cycle saturé ou insaturé contenant éventuellement un ou plusieurs  
30 hétéroatomes et éventuellement condensé avec un ou plusieurs cycles saturés ou insaturés contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes.

15. Composition selon l'une quelconque des revendications  
35 précédentes, caractérisée en ce que le précurseur de colorant est choisi parmi les flavanols, les flavonols, les anthocyaninidines, les anthocyanines,

les hydroxybenzoates, les flavones, les iridoïdes, ces composés pouvant être éventuellement osylés et/ou sous forme d'oligomères, les hydroxystilbènes éventuellement osylés, la 3,4-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés, la 2,3-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés, la 4,5-dihydroxyphénylalanine et ses dérivés, le 4,5-dihydroxyindole et ses dérivés, le 5,6-dihydroxyindole et ses dérivés, le 6,7-dihydroxyindole et ses dérivés, le 2,3-dihydroxyindole et ses dérivés, les dihydroxycinnamates, les hydroxycoumarines, les hydroxyisocoumarines, les hydroxycoumarones, les hydroxyisocoumarones, les hydroxychalcones, les hydroxychromones, les anthocyanes, les quinones, les hydroxyxantones, et les mélanges de deux ou plus des composés précédents.

16. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le précurseur de colorant est choisi parmi les extraits de plantes, de fruits, d'agrumes, de légumes et leurs mélanges.

17. Composition selon la revendication 16, caractérisée en ce que le précurseur de colorant est choisi parmi les extraits de thé, de raisin, de pomme, de banane, de pomme de terre et leurs mélanges.

18. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le précurseur de colorant est présent en une quantité d'au moins 10 micromoles par millilitre de composition.

19. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le ou les acides aminés comprenant au moins un groupe thiol sont choisis parmi les acides aminés ayant une fonction amine en position  $\alpha$  par rapport à une fonction acide carboxylique.

20. Composition selon la revendication 19, caractérisée en ce que le ou les acides aminés sont choisis parmi la cystéine et ses dérivés et le glutathion et ses dérivés.

21. Composition selon l'une des revendications 19 à 20, caractérisée en ce que le rapport molaire du (ou des) acide(s) aminé(s) à groupe SH au(x) précurseur(s) de colorant(s) varie de 0,001 à 50, de préférence de 0,01 à 5, et mieux de 0,05 à 2,5.

22. Composition selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, caractérisée en ce que le précurseur de colorant est la L-DOPA ou un dihydroxyindole et l'acide aminé, la L-cystéine ou le glutathion.

23. Composition selon l'une quelconque des revendications  
5 précédentes, caractérisée en ce que le milieu physiologiquement acceptable est un milieu solubilisant de l'enzyme et du précurseur de colorant et de l'acide aminé éventuels, de préférence à propriété bactériostatique.

24. Composition selon la revendication 23, caractérisée en ce que le milieu physiologiquement acceptable comprend un solvant ou un mélange  
10 de solvants.

25. Composition selon la revendication 24, caractérisée en ce que le solvant est choisi parmi l'eau déminéralisée, les alcools, les éthers, le diméthylsulfoxyde, la N-méthylpyrrolidone, les cétones et leurs mélanges.

26. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce que  
15 l'alcool est un alcanol ou un alcanediol.

27. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce que le solvant est un mélange eau déminéralisée/alcool.

28. Composition selon la revendication 27, caractérisée en ce que l'alcool représente jusqu'à 80% en poids du mélange, de préférence 1 à  
20 50% en poids et mieux de 5 à 20% en poids.

29. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est exempte de tout agent de chélation du sel de Mn(II) et/ou Zn(II).

30. Composition selon l'une quelconque des revendications  
25 précédentes, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme de deux composants séparés, un premier composant comprenant le système catalytique dissous dans un milieu physiologiquement acceptable et un deuxième composant comprenant l'enzyme et éventuellement le précurseur de colorant et l'acide aminé à groupe thiol, dissous dans un  
30 milieu physiologiquement acceptable.

31. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 29, caractérisée en ce qu'elle est conditionnée sous forme d'un aérosol ou d'un système à pompe sans reprise d'air.

32. Composition selon la revendication 30, caractérisée en ce  
35 qu'elle est conditionnée dans un système à pompe à deux compartiments

distincts, chacun des composants étant contenu séparément dans un des deux compartiments.

33. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, caractérisée en ce qu'elle est conditionnée sous forme d'un galet.

5        34. Composition selon la revendication 33, caractérisée en ce que le comprimé comprend un excipient contenant de l'acide citrique et /ou tartrique en quantité sous stoechiométrique par rapport à l'hydrogénocarbonate alcalin et/ou alcalino terreux.

10       35. Composition selon l'une quelconque des revendication 1 à 22, caractérisée en ce qu'elle est conditionnée sous forme de deux galets, un premier galet comprenant le système catalytique et un excipient et un second galet comprenant l'enzyme et éventuellement le précurseur de colorant et l'acide aminé à groupe thiol éventuel, dans un excipient.

15       36. Composition selon l'une quelconque des revendications 33 à 35, caractérisée en ce que le ou les galets sont des galets effervescent.

37. Procédé de coloration de la peau et/ou des fibres kératiniques, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer sur la peau et/ou les fibres kératiniques une couche d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 32.

20       38. Procédé selon la revendication 37, caractérisé en ce que la couche est obtenue en appliquant sur la peau et/ou les fibres kératiniques un premier film d'une composition de base contenant la (ou les) enzyme(s), le (ou les) éventuel(s) précurseur(s) de colorant, et le (ou les) éventuel(s) acide(s) aminé(s) à groupe thiol, dans un milieu  
25       physiologiquement acceptable et en appliquant sur le premier film un second film d'une composition catalytique comprenant le système catalytique dans un milieu physiologiquement acceptable et vice-versa.

39. Procédé selon la revendication 37 ou 38, caractérisé en ce que les films sont appliqués par pulvérisation.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/03109

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K7/06 A61K7/48 A61K7/13 A61K7/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB 2 307 175 A (STIEFEL LABORATORIES) 21 May 1997 (1997-05-21) claims 1,7-9,17-22 -----	1,5-7,9

☐

Further documents are listed in the continuation of box C.

☒

Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 2002

Date of mailing of the international search report

21/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Peeters, J

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/03109

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2307175 A	21-05-1997	AT 201324 T	15-06-2001
		AU 712336 B2	04-11-1999
		AU 7578196 A	05-06-1997
		CA 2237361 A1	22-05-1997
		DE 69612993 D1	28-06-2001
		EP 0861066 A1	02-09-1998
		ES 2157467 T3	16-08-2001
		WO 9717943 A1	22-05-1997
		NZ 322113 A	29-06-1999
		US 5895642 A	20-04-1999

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 01/03109

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> CIB 7    A61K7/06    A61K7/48    A61K7/13    A61K7/42		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b> Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7    A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b>		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	GB 2 307 175 A (STIEFEL LABORATORIES) 21 mai 1997 (1997-05-21) revendications 1,7-9,17-22 -----	1,5-7,9
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div> <input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents         </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe         </div> </div>		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>*A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>*E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>*L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>*O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>*P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="width: 50%;"> <p>*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>*X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>*Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center; font-weight: bold;">9 janvier 2002</div>		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center; font-weight: bold;">21/01/2002</div>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: 1.2em;">Peeters, J</div>

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PCT/FR 01/03109

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
GB 2307175 A	21-05-1997	AT 201324 T	15-06-2001
		AU 712336 B2	04-11-1999
		AU 7578196 A	05-06-1997
		CA 2237361 A1	22-05-1997
		DE 69612993 D1	28-06-2001
		EP 0861066 A1	02-09-1998
		ES 2157467 T3	16-08-2001
		WO 9717943 A1	22-05-1997
		NZ 322113 A	29-06-1999
		US 5895642 A	20-04-1999